

L'APPAREIL SPOROPHYTIQUE ET LES ASQUES DU *TUBER MELANOSPORUM* VITT. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes)

A. PARGUEY-LEDUC*, M.C. JANEX-FAVRE*, C. MONTANT**

* Laboratoire de Cryptogamie, Université Pierre et
Marie Curie, 7, Quai Saint-Bernard
- 75252 Paris Cedex 05 - France

** Laboratoire de Cryptogamie, Université Paul
Sabatier, 118, Route de Narbonne
- 31602 Toulouse Cedex - France

RÉSUMÉ - L'appareil sporophytique du *Tuber melanosporum* comprend successivement une phase prosporophytique (vésicule plurinucléée) et une phase ascosporophytique (hyphes dicaryotiques terminées par des dangeardies ascogènes). Les asques présentent des particularités remarquables : forme globuleuse, polarité dans la répartition des constituants, relative simplicité de la paroi, délimitation individuelle des ascospores, réduction de leur nombre et présence d'un sac postsporal. Ces caractères, également trouvés chez d'autres espèces du genre *Tuber* et dans le genre voisin *Terfezia*, justifient, au moins pour ces deux genres hypogés très proches, la distinction d'un ordre des Tubérales au sein des Discomycètes.

ABSTRACT - In *Tuber melanosporum* sporophytic apparatus comprises two successive stages: 1. prosporophytic multinucleate vesicles and 2. ascosporophytic dicaryotic hyphae with ascogenous croziers at the tip. Asci show strong peculiarities: globular shape, polarity in the components distribution, non-complexity of ascus wall, process of individual ascospore delimitation, occurrence of a postsporal membrane surrounding the ascospores which are less than eight in number. *Tuber melanosporum* shares those features with other species in the genus *Tuber* as with *Terfezia* species, which justifies, for both hypogeous genera at least, the distinction of order Tuberales within Discomycetes.

MOTS CLÉS : appareil sporophytique, asque, ultrastructure, Tubérales, *Tuber*.

Dans le cadre de l'étude approfondie de l'ascocarpe de *Tuber melanosporum* Vitt. que nous avons entreprise (Montant et al., 1983; Kulifaj, 1984; Parguey-Leduc et al., 1984, 1985, 1987a et b, 1988, 1989) nous décrivons dans cet article nos observations en microscopie photonique et

électronique sur l'appareil sporophytique et les asques qui en dérivent; par contre, nous ne reprendrons pas l'étude de l'ascosporogénèse et de l'évolution des ascospores que nous avons déjà rapportée antérieurement.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les échantillons étudiés, récoltés à divers stades pour que l'évolution ontogénique puisse être suivie, proviennent de France (Visan et Valréas - Vaucluse -; Les Eyzies - Dordogne -).

Pour les études en microscopie photonique, des préparations par écrasement ont été effectuées dans l'eau ou divers colorants : le rouge neutre, le bleu BZL, le bleu coton, l'encre stylographique, le lugol et le vert Visba. Des colorations sur coupes (après fixation par le liquide de Westbrook et inclusion dans la paraffine) ont en outre été réalisées à l'aide de l'hématoxyline ferrique.

Pour les études en microscopie électronique par transmission, des fragments des ascocarpes ont été traités par les méthodes classiques : double fixation par le glutaraldéhyde à 6% et le tétroxyde d'osmium à 2%, avec tampon de Sörensen, inclusion dans la résine de Spurr. Les coupes, effectuées à l'aide d'un ultramicrotome Reichert OMU 3, ont été contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (18 minutes) ou traitées par la technique de Thiéry (1967), et observées à l'aide d'un microscope Philips 30.15 sous une tension d'accélération de 80 KV. Des coupes semi-fines, colorées par la pyronine, ont été observées au microscope photonique.

I - APPAREIL SPOROPHYTIQUE ET FORMATION DES ASQUES

Les éléments sporophytiques se distinguent aisément, en microscopie photonique, sur les coupes colorées par l'hématoxyline du fait de leur grande affinité pour ce colorant, et ce aux divers stades du développement de l'ascocarpe (Parguey-Leduc et al., 1984, 1985, 1987b).

Au stade apothécioïde (Parguey-Leduc et al., 1985 et Fig. 1), l'appareil sporophytique se présente sous forme de filaments disposés en cupule. Ultérieurement, alors que l'ascocarpe est devenu globuleux (Parguey-Leduc et al., 1984 et Fig. 2), ces filaments sont disposés dans la glèbe au sein de veines fertiles, enserrées dans les circonvolutions de veines stériles aérifères. Localisés en premier lieu dans la partie axiale des veines fertiles (*vf*, 1, Fig. 3), ils se développent ensuite en direction centrifuge (2) et atteignent ainsi la base de la palissade de paraphyses qui borde les veines stériles (*vs*). Plus tard, ils progressent vers la périphérie de l'ascocarpe jusqu'à la base des écailles (*e*) du péridium (3, puis 4), dans lesquelles ils peuvent même exceptionnellement pénétrer (Parguey-Leduc et al., 1987b).

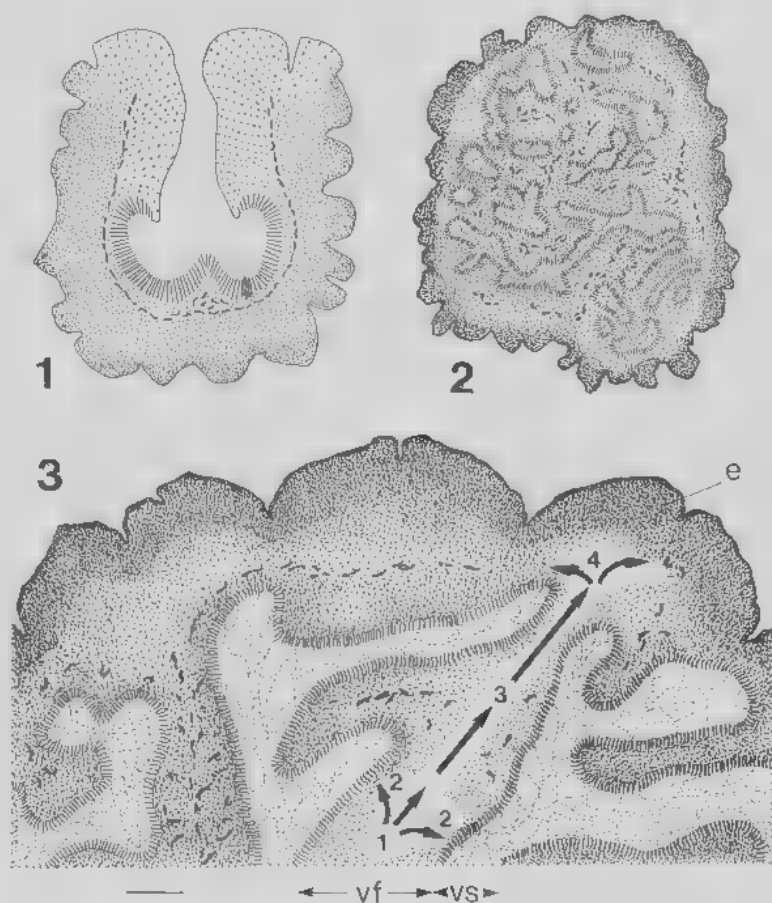


Fig. 1 à 3 : structure de l'ascocarpe (microscopie photonique). Fig. 1 : jeune ascocarpe au stade apothécioidé; Fig. 2 : jeune ascocarpe devenu globuleux; Fig. 3 : détail de la périphérie d'un ascocarpe montrant la progression de l'appareil sporophytique, puis des asques, de la partie axiale d'une veine fertile vers la base d'une écaille du périidium (de 1 à 4). *e* : écaille; *vf* : veine fertile; *vs* : veine stérile. Echelle : Fig. 1, 12,5 μ m; Fig. 2, 500 μ m; Fig. 3, 100 μ m.

Fig. 1 to 3: ascocarp structure (light microscope). Fig. 1 : young ascocarp, apothecioid stage; Fig. 2 : young globular ascocarp; Fig. 3 : detail of the peripheral part of an ascocarp showing sporophytic apparatus and asci moving from the axial part of a fertile vein to the base of a peridial scale. *e*: scale; *vf*: fertile vein; *vs*: sterile vein. Scale: Fig. 1, 12,5 μ m; Fig. 2, 500 μ m; Fig. 3, 100 μ m.

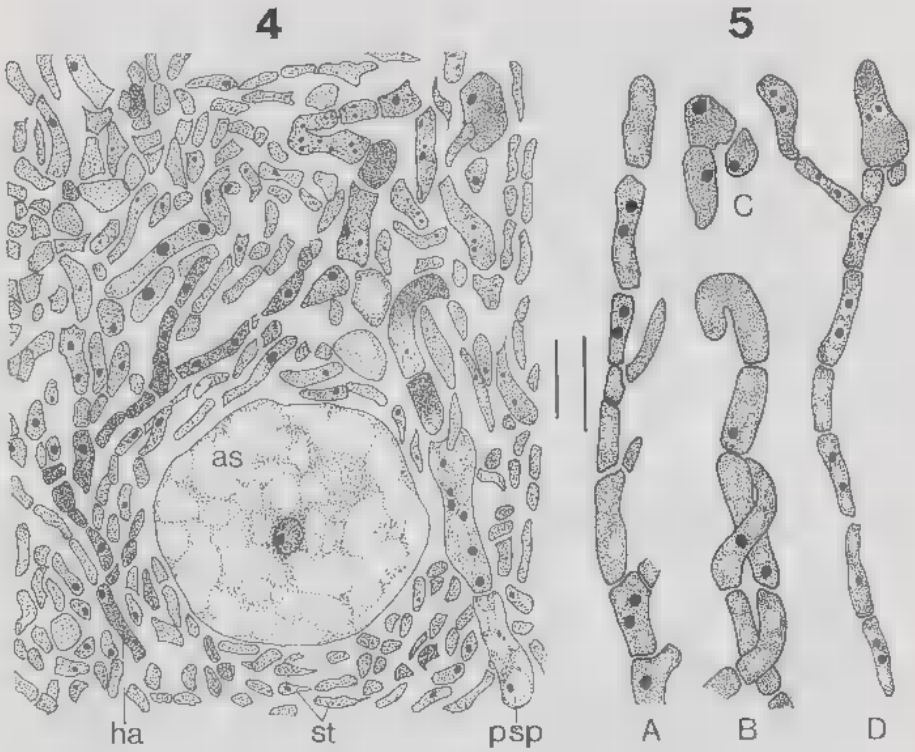


Fig. 4 et 5 : appareil sporophytique (microscopie photonique). Fig. 4: portion d'une veine fertile comportant, outre les éléments stériles (*st*), des éléments fertiles: vésicule prosporophytique (*psp*), hyphes ascogènes (*ha*) et asques (*as*). Fig. 5, A à D: détail d'hyphes ascogènes. Echelle : 10 μ m.

Fig. 4 and 5 : sporophytic apparatus (light microscope). Fig. 4: part of a fertile vein comprising sterile (*st*) and fertile elements: prosoporophytic vesicle (*psp*), ascogenous hyphae (*ha*) and asci (*as*). Fig. 5, A to D: detail of ascogenous hyphae. Scale: 10 μ m.

Enfin, au stade adulte apparaissent les premiers asques; l'ascocarpe atteint alors un poids de quelques milligrammes. Ils deviennent ensuite sporogènes et de plus en plus abondants, ce qui entraîne un important développement des veines fertiles, tandis que les veines stériles sont écrasées et s'amenuisent.

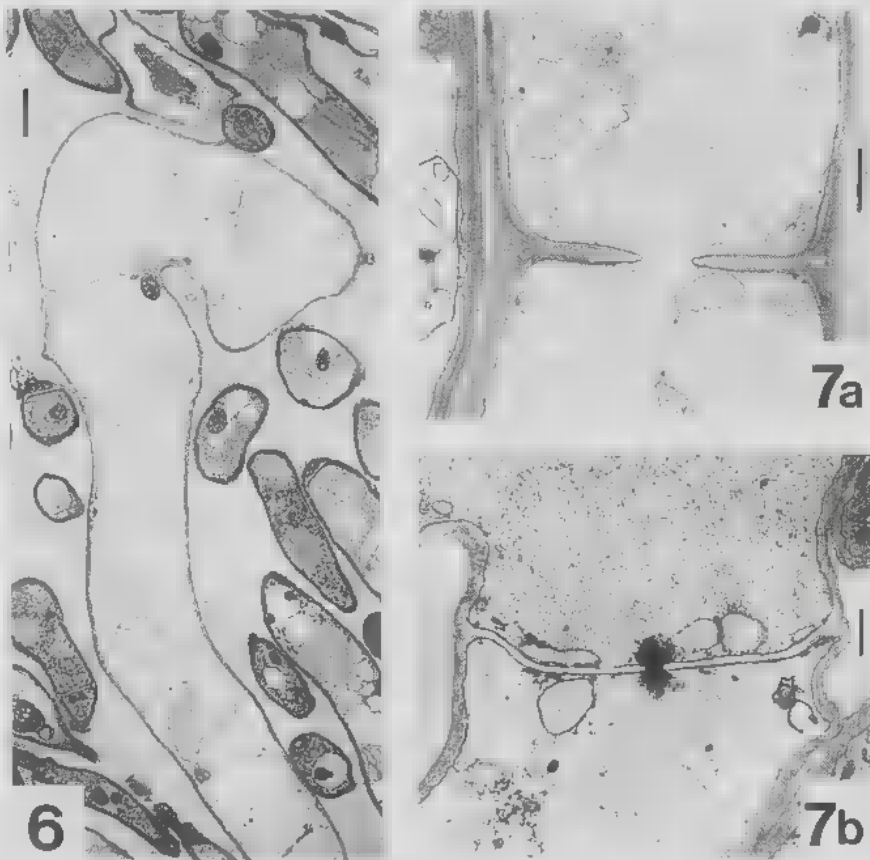


Fig. 6 et 7 : appareil prosporophytique (microscopie électronique). Fig. 6 (technique de Thiéry): vésicule prosporophytique environnée de filaments stériles; Fig. 7, a et b: détail des septums. Echelle: Fig. 6, $2\mu\text{m}$; Fig. 7, $0,5\mu\text{m}$.

Fig. 6 and 7 : prosporophytic apparatus (electron microscope). Fig. 6 (Thiéry's technique): prosporophytic vesicle surrounded by sterile filaments; Fig. 7, a and b: detail of septa. Scale: Fig. 6, $2\mu\text{m}$; Fig. 7, $0,5\mu\text{m}$.

1 - Appareil sporophytique

Les veines fertiles sont composées d'éléments stériles (*st*, Fig. 4) étroits, à cellules en principe uninucléées, et d'éléments fertiles correspondant aux stades successifs de l'évolution de l'appareil sporophytique, telle que l'a décrite Chadefaud (1944, 1952, 1953a et b, 1960). Selon cet auteur, rappelons-le, l'ascogone, en principe après fécondation, évolue en un appa-

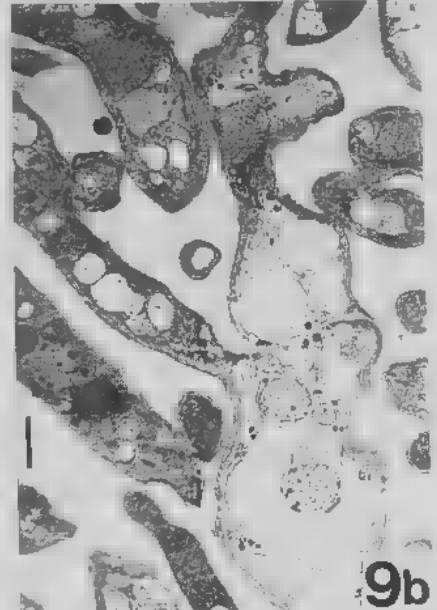
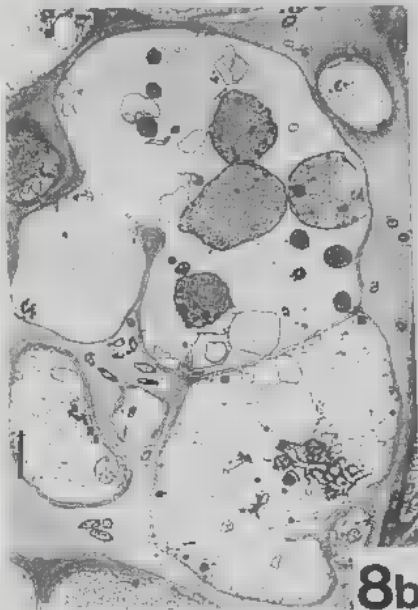


Fig. 8 et 9 : appareil prosporophytique (microscopie électronique). Fig. 8, a et b : vésicules plurinucléées; Fig. 9, a et b : bourgeonnement des hyphes ascogènes. Echelle: $2\mu\text{m}$.

Fig. 8 and 9 : prosporophytic apparatus (electron microscope). Fig. 8, a and b : multinucleate vesicles; Fig. 9, a and b : budding of ascogenous hyphae. Scale: $2\mu\text{m}$.

reil sporophytique, formé d'abord d'un prosperophyte puis d'un ascosporophyte bourgeonné par celui-ci.

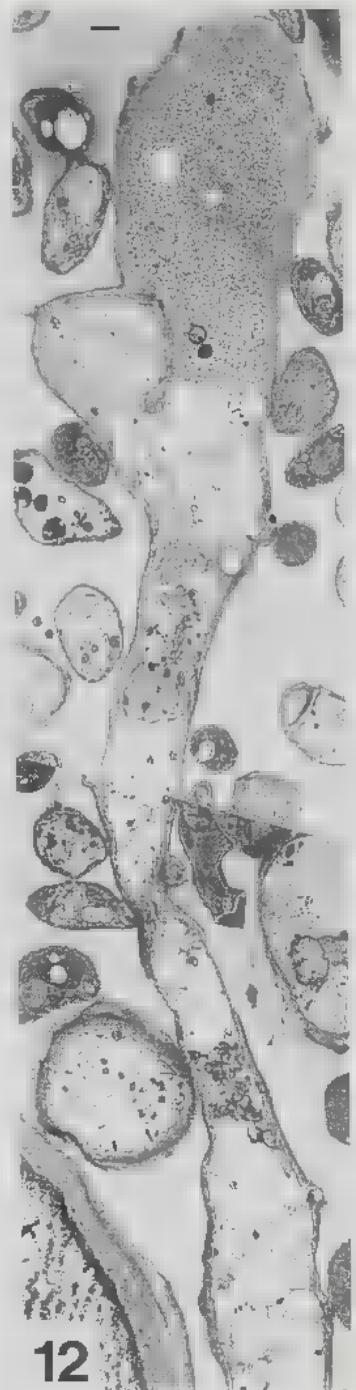
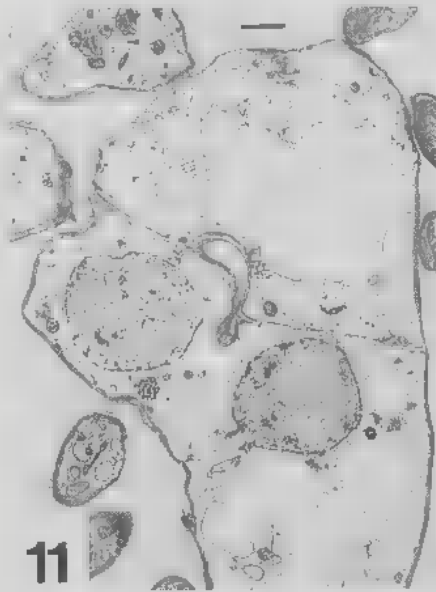
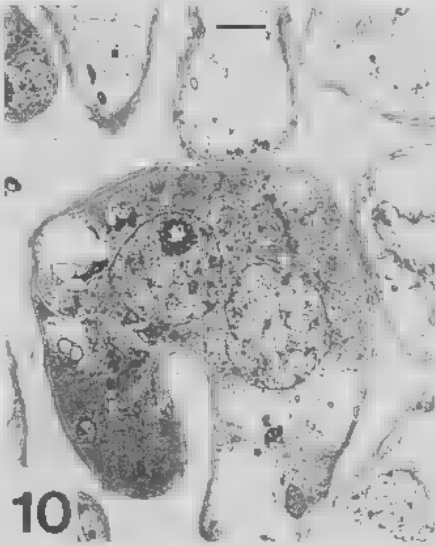
Chez le *T. melanosporum*, l'ascogone n'a pas été identifié du fait que les tout premiers stades de formation de l'ascocarpe n'ont pu être repérés sur le terrain, en raison de leur petitesse. Rappelons toutefois que Chaze (1950) a obtenu en culture des vésicules qu'il considère comme des oogones du *T. melanosporum* et que Marchisio (1964) a décrit, chez le *Tuber maculatum*, des oogones et des anthéridies, différenciés à l'extrémité d'"hyphes ascogènes"; d'après ce dernier auteur, les oogones, après fécondation, se transforment directement en asques; ce processus est en désaccord avec les vues de Chadeffaud et nos propres observations. Celles-ci débutent au stade du prosperophyte (*psp.* Fig. 4), composé de volumineuses vésicules boursoufflées irrégulièrement, vacuolisées et plurinucléées. En microscopie électronique (Fig. 6, 8 a et b), elles apparaissent tantôt sub-cylindriques, tantôt bosselées ou même pourvues de protubérances marquées. Leurs cloisons transversales présentent un pore médian, qui peut être simple (Fig. 7a) ou obturé par une formation opaque aux électrons, en forme de sablier (Fig. 7b).

Le bourgeonnement de l'ascosporophyte à partir de vésicules prosperophytiques a été observé en microscopie électronique (Fig. 9 a et b); il en résulte des éléments de diamètre moindre et à contenu plus dense aux électrons, avec deux volumineux noyaux associés que l'on peut probablement considérer comme un dicaryon (Fig. 9a). Ceux-ci évoluent ensuite en hyphes ascogènes, bien visibles en microscopie photonique du fait de leur forte colorabilité (*ha.* Fig. 4); plusieurs fois ramifiées elles sont composées de cellules généralement binucléées (Fig. 5).

Les filaments de l'appareil sporophytique avaient déjà été observés par Greis (1938) chez le *Tuber aestivum* et le *T. brumale*, mais nous n'avons pas retrouvé les crochets accompagnant la formation de chacune des cloisons transversales que décrit cet auteur; il s'agirait peut-être, en réalité, comme chez le *T. melanosporum*, de jeunes ramifications latérales (Fig. 5A). Par contre, nous avons retrouvé le crochet terminal figuré par Greis (Fig. 5B); il est à l'origine d'une cellule proascale (Fig. 5C) et termine une hyphe ascogène à cellules binucléées (Fig. 5D).

2 - Formation des asques

Dans le crochet qui termine une hyphe ascogène, deux cloisons transversales se forment, l'une à la base et l'autre près du sommet, délimitant, selon le processus décrit par Dangeard (1894), une cellule proascale binucléée et un bec latéral (Fig. 5C, 10). Ce dernier se soude ensuite au pied; leur cloison mitoyenne disparaissant, il s'ensuit la formation d'une cellule sous-ascale dans laquelle sont associés le noyau de la cellule-pied et celui du bec (Fig. 11). Corrélativement, la cellule proascale, terminant une hyphe



ascogène à cellules binucléées (Fig. 5D, 12), s'allonge; son contenu est plus dense aux électrons (Fig. 13) que celui de la cellule sous-ascale, abondamment vacuolisé. Après fusion de ses deux noyaux en un volumineux noyau unique, disposé au centre de la cellule (Fig. 14), elle devient un asque, de forme encore allongée; dans tout son volume sont disséminées de petites vacuoles autour desquelles se répartissent des grains de glycogène fortement réactifs au test de Thiéry.

II - EVOLUTION ET STRUCTURE DES ASQUES (microscopie photonique)

Elles ont été suivies sur préparations par écrasement et sur coupes. Le jeune asque représenté par la figure 15A est encore rattaché à l'hyphé ascogène; à sa base est bien visible le bec latéral, vestige du crochet dangeardien (Chadefaud, 1944).

Au stade suivant, l'asque est devenu plus gros et sub-globuleux (Fig. 15B). Les vacuoles sont particulièrement bien individualisées, réparties dans tout le volume ascas, autour du noyau central. Par la suite, l'asque continue à grossir; sa paroi s'épaissit et ses constituants tendent à se répartir en zones distinctes (Fig. 15C); une telle zonation est caractéristique du genre *Tuber* (Parguey-Leduc & Janex-Favre, 1977, 1981) et même d'autres Tubérales (Janex-Favre et al., 1988). La partie inférieure de l'asque, correspondant à plus des 2/3 de son volume, est remarquablement riche en glycogène; au-dessus se localisent la majorité des vacuoles, souvent pourvues chacune d'un précipité pyroninophile visible sur les coupes semi-fines puis, tout à fait au sommet, un cytoplasme finement granuleux entourant le noyau. Par la suite, ce dernier se divise et les noyaux-fils deviennent les noyaux sporaux : les jeunes ascospores sont ainsi différenciées au sommet de l'asque (Fig. 15D).

Ultérieurement, le groupe d'ascospores en voie de maturation se localise au centre de l'asque (Fig. 15E); il est alors contenu à l'intérieur du sac postsporal antérieurement décrit chez diverses Truffes (Chadefaud, 1976; Parguey-Leduc & Janex-Favre, 1977, 1981); d'épaisseur irrégulière, ce sac est nettement souligné par les divers colorants utilisés. A l'extérieur du sac, le

Fig. 10-12 : formation des asques (microscopie électronique). Fig. 10: crochet dangeardien; Fig. 11: cellule proascale et sa base dangeardienne; Fig. 12: cellule proascale à l'extrémité d'une hyphé ascogène. Echelle: 1µm.

Fig. 10-12: ascus formation (electron microscope). Fig. 10: crozier; Fig. 11: proaseal cell with basal crozier; Fig. 12: proaseal cell at the tip of an ascogenous hypha. Scale: 1µm.

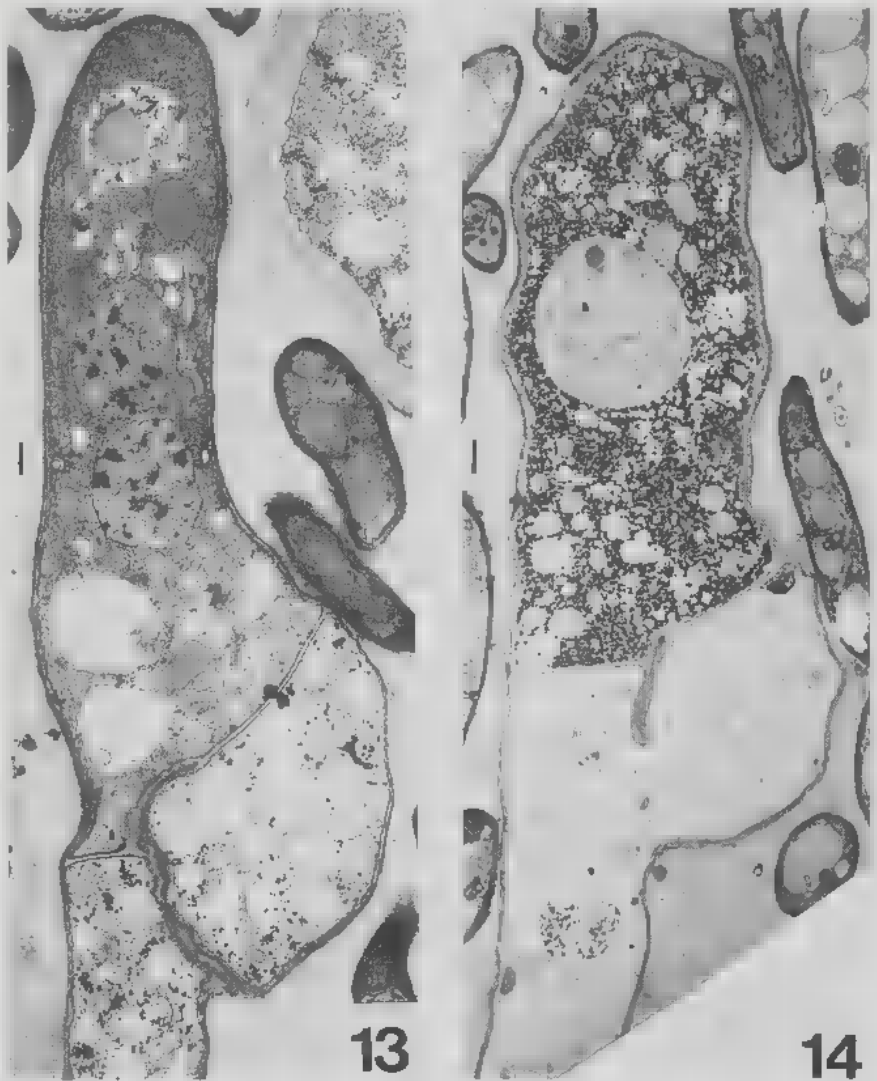


Fig. 13 et 14 : transformation de la cellule proascale en asque (microscopie électronique, technique de Thiéry). Fig. 13: cellule proascale binucléée; Fig. 14: jeune asque uninucléé; les bases d'angardiennes sont bien visibles. Echelle: $1\mu\text{m}$.

Fig. 13 and 14 : evolution from a proascual cell into an ascus (electron microscope, Thiéry's technique). Fig. 13: binucleate proascual cell; Fig. 14: young uninnucleate ascus. Note the basal croziers. Scale: $1\mu\text{m}$.

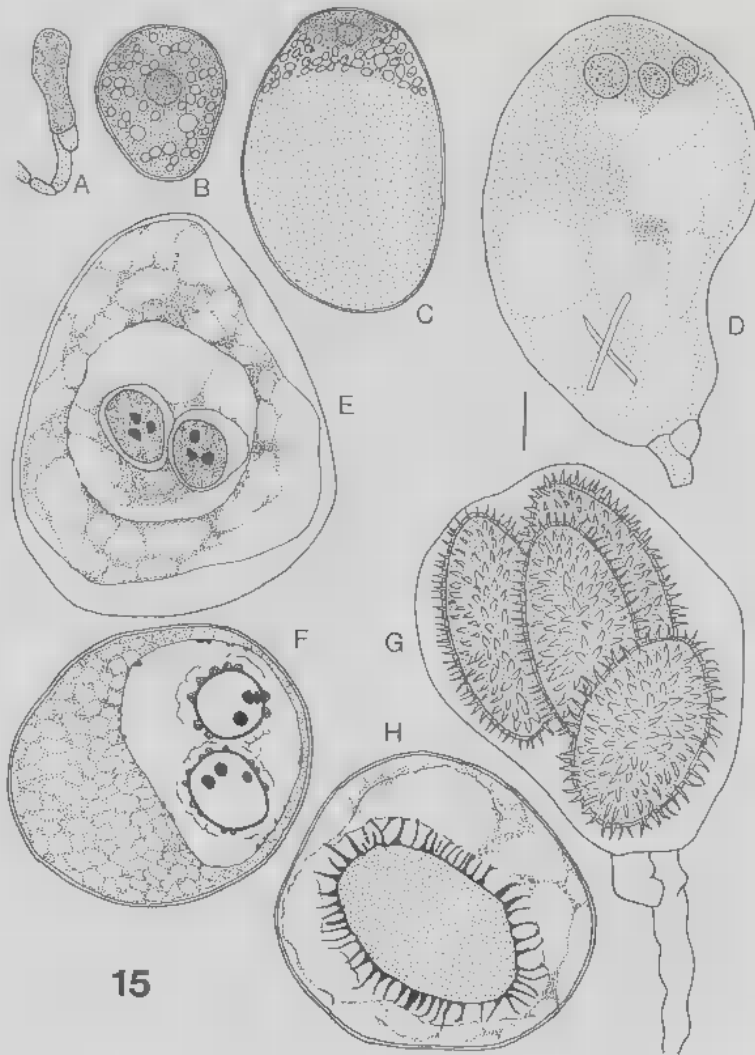


Fig. 15, A-H: évolution et structure des asques (microscopie photonique). G (montage dans l'eau) est une figure inédite de M. Chadeaud. Colorations: bleu Cotton (D), hématoxyline (E, H), lugol (A), pyronine (B, C, F). Echelle: 10 μ m.

Fig. 15, A-H : evolution and structure of asci (light microscope). G (water mounting) is an unpublished drawing of M. Chadeaud. Stains used are Cotton blue (D), haematoxylin (E, H), lugol (A), pyronine (B, C, F). Scale: 10 μ m.

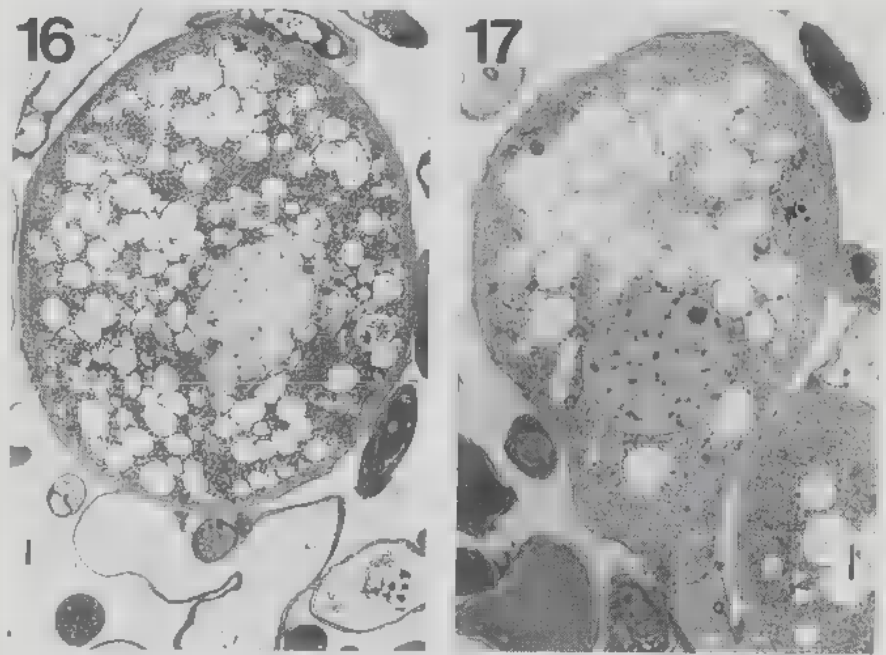


Fig. 16 et 17 : jeunes ascus uninucléés, globuleux; noter l'évolution dans la répartition des vacuoles (microscopie électronique). Echelle: 1 μ m.

Fig. 16 and 17 : young uninucleate globular asci; note changing of vacuole localization (electron microscope). Scale: 1 μ m.

contenu ascéal est fortement vacuolisé. Au stade figuré chaque ascospore contient plusieurs globules lipidiques et sa paroi comporte une périspore, d'épaisseur irrégulière; les périspores des différentes ascospores sont indépendantes et toujours clairement distinctes du sac postsporal.

A un stade un peu plus avancé de son évolution, la paroi ascosporale porte des mamelons fortement colorables (Fig. 15F) qui représentent le début de son ornementation. Sur les coupes semi-fines la pyronine colore fortement des granules de taille variable disposés sur le trajet du sac postsporal.

L'asque adulte, de forme sub-globuleuse (90-140 x 80-120 μ m) et porté par un pied souvent assez long, pourvu d'une anse dangeardienne (Fig. 15G), contient un nombre variable d'ascospores (de 1 à 6, le plus souvent 4), autour desquelles le sac postsporal n'est plus distinct. De forme elliptique (30-40 x 22-30 μ m), les ascospores présentent une paroi brune hérissée

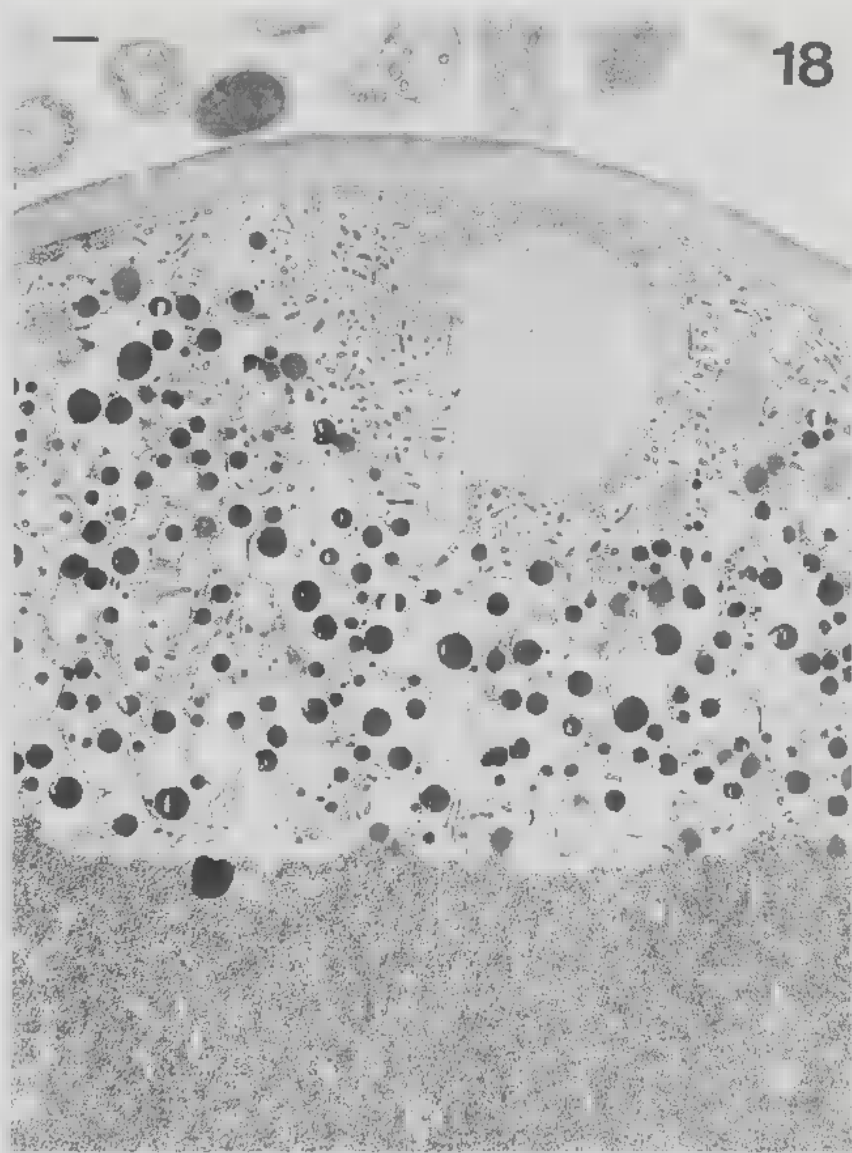


Fig. 18 : asque uninucléé avec zonation horizontale précédant l'ascosporigénèse (microscopie électronique). Echelle: 1 μ m.

Fig. 18 - uninucleate ascus, typical polarity preceding ascosporegenesis (electron microscope). Scale: 1 μ m.

d'épines serrées, souvent légèrement courbes; les bases coniques jointives des épines sont bien visibles en coupe (Fig. 15H). Sur cette même figure, on notera que l'ascospore, ici unique dans l'asque, a des dimensions supérieures à la moyenne ($40 \times 25 \mu\text{m}$ pour le seul corps sporal) et que le sac postsporal, vraisemblablement en voie de lyse, est fragmenté en segments disjoints.

III - ULTRASTRUCTURE DES ASQUES

Les stades d'évolution des asques suivis en microscopie photonique sont également identifiables sur les micrographies électroniques. Ainsi, l'asque uninucléé, primitivement allongé (Fig. 14) devient globuleux (Fig. 16); son contenu (noyau central, vacuoles éparées, cytoplasme riche en glycogène) contraste avec celui de la cellule sous-ascale, fortement vacuolisé. L'établissement de la zonation caractéristique du stade précédant l'ascosporogénèse se manifeste d'abord par le regroupement des vacuoles dans la partie sus-jacente au noyau (Fig. 17). Un peu plus tard, la stratification préalablement décrite est établie (Fig. 18): masse basale de glycogène, puis, au-dessus, couche à vacuoles dominantes et région sommitale à cytoplasme riche en organites (mitochondries notamment) autour du noyau, toujours unique.

Dans la couche où dominent les vacuoles est observable une évolution caractéristique qui se produit à l'approche de la division nucléaire et de l'ascosporogénèse qui s'ensuit. Entre les vacuoles, à contenu initialement clair, se différencient progressivement des petites masses ovoïdes à subsphériques, d'abord moyennement opaques aux électrons, puis très denses (Fig. 19a). La plupart d'entre elles sont progressivement incluses dans les vacuoles selon un processus qui peut être suivi sur la figure 19b. Les masses denses s'appliquent sur le tonoplaste des vacuoles en prenant la forme de calottes, puis elles le traversent et reprennent leur forme globuleuse primitive à l'intérieur des vacuoles, dont le tonoplaste est alors reconstitué.

Corrélativement à l'évolution du contenu ascas se produit, au stade de l'asque uninucléé, une complication de la paroi ascasale qui, préalablement simple, devient double (Fig. 20a) : couche externe (= exoascus) mince et sombre, fortement réactive au test de Thiéry et couche interne (= endoascus) beaucoup plus épaisse et de densité moyenne. Les deux couches de la paroi ascasale présentent une texture granuleuse tandis que la substance interascasale apparaît sous forme de fibrilles, à orientation désordonnée. Ultérieurement, la paroi ascasale se complique encore, une couche basale située contre le plasmalemme s'individualisant à l'intérieur de l'endoascus (Fig. 20b).

La polarité de l'asque se maintient au stade de la division du noyau unique (Fig. 21) puis lors de l'ascosporogénèse (cf. Parguey-Leduc & Janex-Favre, 1981). La figure 22 montre un sommet d'asque où sont présents

conjointement de jeunes ascospores et des noyaux : inutilisés lors de l'ascosporogénèse, ceux-ci sont probablement en voie de dégénérescence, ce qui explique le nombre limité d'ascospores à l'intérieur de l'asque.

Le stade où les ascospores en voie de maturation sont groupées au centre de l'asque, à l'intérieur du sac postsporal, est aisément identifiable en microscopie électronique (Fig. 23). Le contraste entre les deux régions délimitées par le sac est particulièrement évident : à ce stade, à l'extérieur, entre la paroi ascale et le sac postsporal (flèche), l'épiplasme contient essentiellement du glycogène tandis qu'à l'intérieur, autour des ascospores, sont visibles les vacuoles à masse globuleuse dense. Le sac postsporal lui-même (flèche) est souligné, sur sa face externe, par de petites masses globuleuses opaques aux électrons et réactives au test de Thiéry, qui fait apparaître un liseré limitant plus fortement noirci (Fig. 24). Ainsi que nous l'avons indiqué en rapportant nos observations en microscopie photonique, l'ectospore (*ec*) limitant la périspore (*pe*) de chaque ascospore est parfaitement distincte du sac postsporal (flèche, Fig. 25) et ne peut en conséquence être impliquée dans la formation de celui-ci.

CONCLUSION

L'étude approfondie des ascocarpes du *T. melanosporum* nous permet d'apporter ici diverses précisions sur l'appareil sporophytique, dont l'observation est délicate et la cytologie souvent encore mal connue. Ainsi, nous avons pu confirmer la subdivision du sporophyte en deux phases, reconnues chez les Ascomycètes par Chadefaud depuis 1944: première phase prosporophytique formée de vésicules plurinucléées et deuxième phase ascosporophytique composée d'hyphes à cellules dicaryotiques bourgeonnées par les vésicules; celles-ci produisent à leur extrémité, au moyen de dangardies ascogènes, des cellules proascales, également dicaryotiques. Ces dernières se transforment en asques par fusion de leurs deux noyaux.

Les asques du *T. melanosporum* ont une organisation tout à fait conforme à celle des espèces de *Tuber* décrites antérieurement (Parguey-Leduc & Janex-Favre, 1977, 1981). Ses caractères les plus originaux sont:

- la forme globuleuse du corps de l'asque: celle-ci est acquise dès le stade uninucléé : la forme allongée de la cellule proascale n'est en effet conservée que peu de temps après la fusion des deux noyaux;

- la polarité dans la répartition des constituants internes: elle s'établit au stade uninucléé et se modifie au cours de l'évolution de l'asque. Au moment où le noyau de fusion est sur le point de se diviser, préalablement à l'ascosporogénèse, elle est horizontale, la zone sporogène se localisant au sommet de l'asque. Cette première zonation disparaît lorsque les jeunes ascospores ont achevé la différenciation de leur paroi primaire et commencent à acquérir leur paroi secondaire. Elles tendent alors à se regrouper au

centre de l'asque, à l'intérieur d'un sac postsporal, ce qui détermine une nouvelle zonation, concentrique;

- le mécanisme de l'ascosporogénèse: rappelons ses caractères originaux, décrits récemment chez le *T. melanosporum* (Parguey-Leduc et al., 1987a, 1988) et analogues à ceux déjà rapportés chez le *Tuber aestivum* (Janex-Favre & Parguey-Leduc, 1976; Parguey-Leduc & Janex-Favre, 1977). Chez ces deux espèces les ascospores sont délimitées individuellement au sommet de l'asque, à partir de diverticules lomasomiens, et non à partir d'une vésicule ascale, comme c'est le cas chez les autres Eu-Ascomycètes; ce mode de différenciation rappelle le type d'ascosporogénèse rencontré chez les Hémiascomycètes où les ascospores sont également formées indépendamment les unes des autres, mais suivant des modalités différentes, mettant en jeu le disque astérien;

- la structure de la paroi ascale: les deux couches qui la composent classiquement n'ont pas la complexité de celles des autres Discomycètes,

Fig. 19 et 20 : détails d'asques immatures (microscopie électronique). Fig. 19, a et b: formation et incorporation dans les vacuoles de masses denses aux électrons; Fig. 20, a et b (technique de Thiéry): évolution de la paroi ascale. Echelle: 0,25µm.

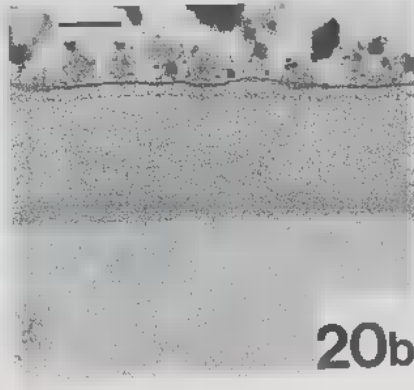
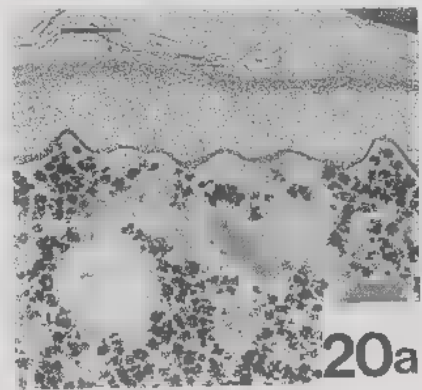
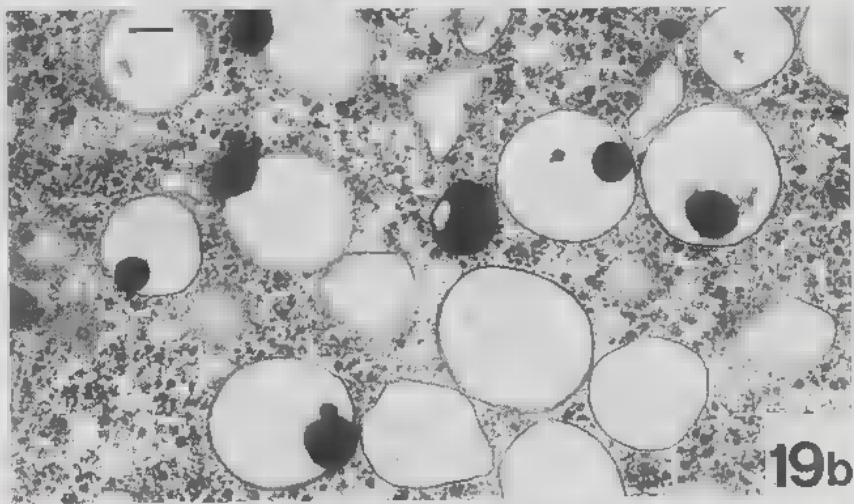
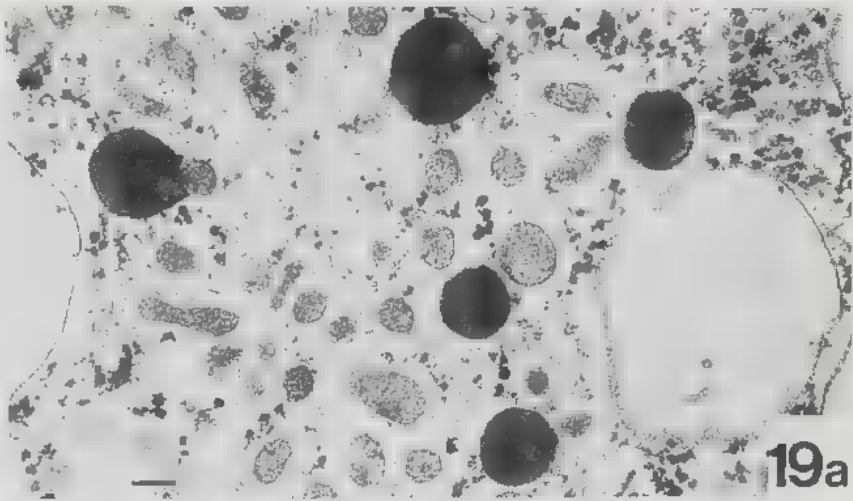
Fig. 19 and 20 : close up of nonmature asci (electron microscope). Fig. 19, a and b: electron opaque bodies incorporating clear vacuoles; Fig. 20, a and b (Thiéry's technique): evolution of ascal wall. Scale: 0,25µm.

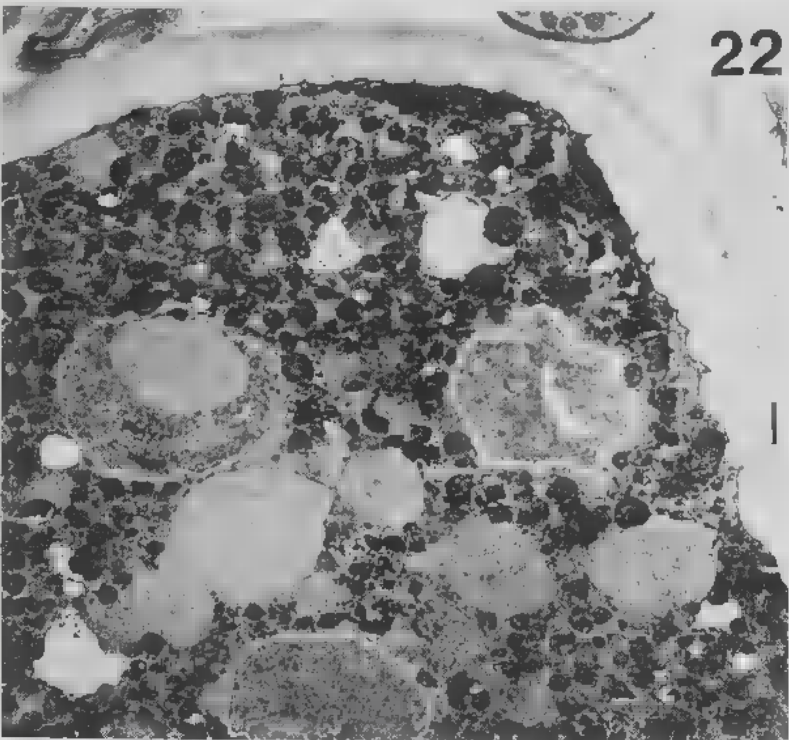
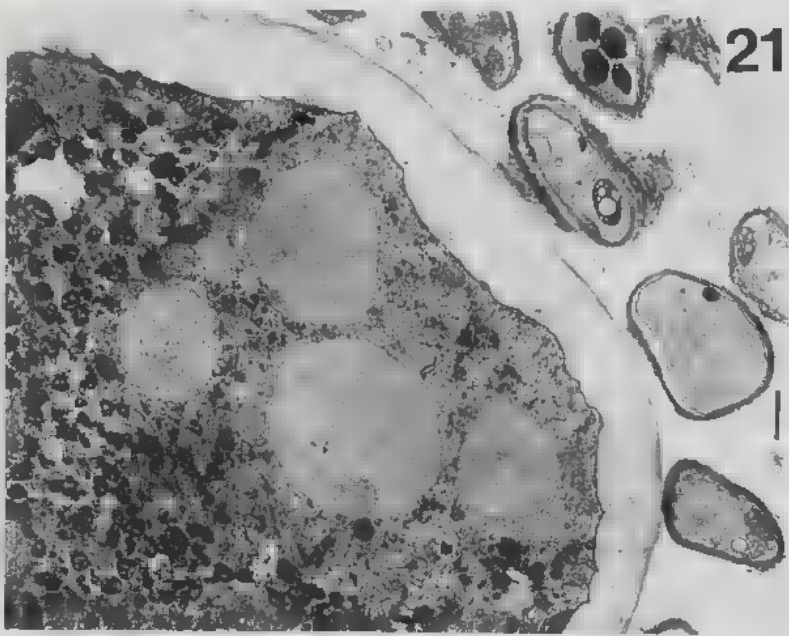
Fig. 21 et 22 : sommets d'asques au moment de l'ascosporogénèse (microscopie électronique, technique de Thiéry). Fig. 21: asque plurinucléé; Fig. 22: jeunes ascospores et noyaux probablement abortifs. Echelle: 1µm.

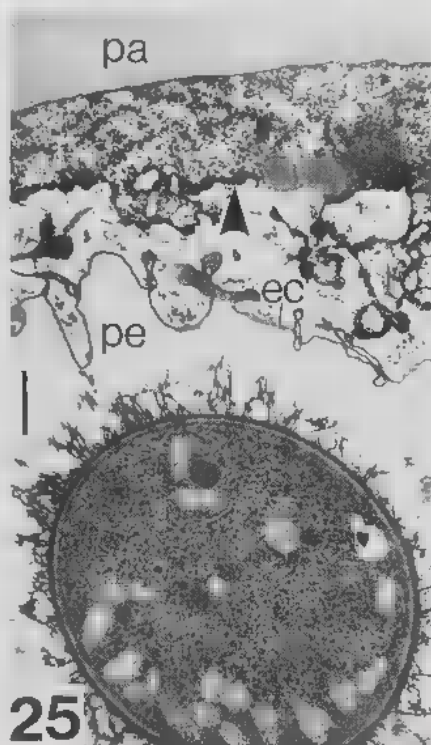
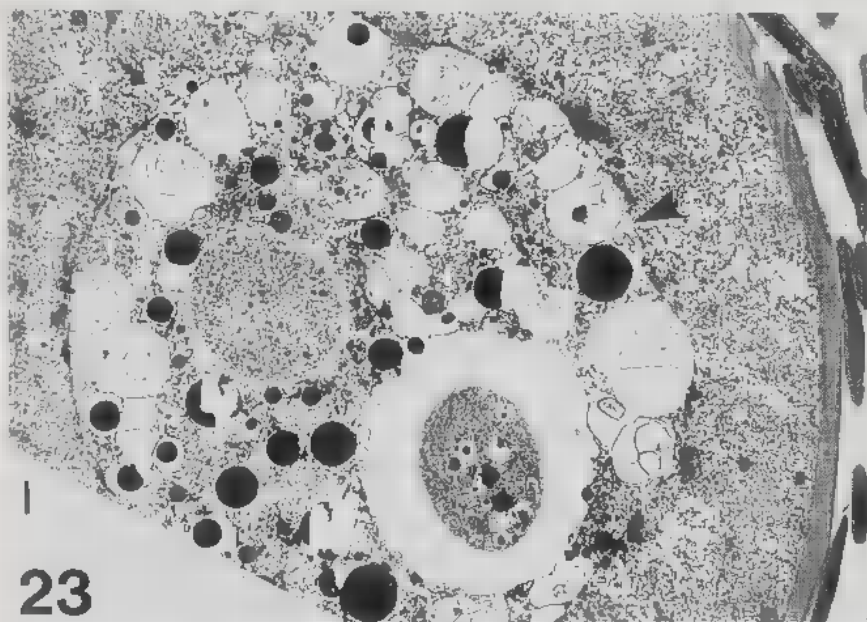
Fig. 21 and 22 : apical portion of ascus during ascosporogenesis (electron microscope, Thiéry's technique). Fig. 21: multinucleate ascus; Fig. 22: young ascospores and likely abortive nuclei. Scale: 1µm.

Fig. 23-25 : sac postsporal et zonation concentrique dans un asque sub-adulte (microscopie électronique). Fig. 23: vue d'ensemble; Fig. 24 (technique de Thiéry): détail du sac postsporal et de ses masses globuleuses; Fig. 25: détail du sac postsporal et de la paroi ascosporale. *ec*: ectospore; *pa*: paroi ascale; *pe*: périspore; les flèches indiquent le sac postsporal. Echelle: 1µm.

Fig. 23-25 : postsporal membrane and concentric zonation in sub-adult ascus (electron microscope). Fig. 23: general view; Fig. 24 (Thiéry's technique): close-up of postsporal membrane with globular bodies; Fig. 25: close-up of postsporal membrane and ascospore wall. *ec*: ectospore; *pa*: ascus wall; *pe*: perispore; arrows point to the postsporal membrane. Scale: 1µm.







lichénisés ou non (Bellemère, 1975, 1977; Bellemère & Hafellner, 1982, 1983; Bellemère et al., 1986a et b).

- la paroi ascosporelle, complexe et ornementée (Parguey-Leduc et al., 1987a).

Certaines de ces particularités des asques des *Tuber* ont également été trouvées chez divers *Terfezia* (Janex-Favre & Parguey-Leduc, 1985; Janex-Favre et al., 1988), ce qui confirme l'originalité de ces deux genres hypogés au sein des Discomycètes. Celle-ci ne se limite d'ailleurs pas aux caractères asciaux mais porte également sur l'organisation de l'ascocarpe, avec notamment l'absence d'un hyménium typique. Ceci incite à conserver, au moins pour ces deux genres très proches, l'ordre des Tubérales comme ordre distinct au sein des Discomycètes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions B. DARCHEN (Station biologique des Eyzies), R. GLEIZE (Valréas) et M. KULIFAJ (Université Paul Sabatier de Toulouse) qui nous ont aimablement procuré les échantillons, ainsi que M. AVNAIM, J. BIDOUX, C. FOURNIGAULT et N. JAMPSIN pour leur collaboration technique compétente et amicale.

Avec le concours financier du Conseil Régional de Midi-Pyrénées (décision n° 86 005325: Déc.) auquel nous exprimons nos remerciements.

BIBLIOGRAPHIE

- BELLEMÈRE A., 1975 - Étude ultrastructurale des asques : la paroi, l'appareil apical, la paroi des ascospores chez des Discomycètes inoperculés et des Hystériales. *Physiol. Vég.* 13: 393-406.
- BELLEMÈRE A., 1977 - L'appareil apical de l'asque chez quelques Discomycètes: étude ultrastructurale comparative. *Rev. Mycol. (Paris)* 41: 233-264.
- BELLEMÈRE A. et HAFELLNER J., 1982 - Étude ultrastructurale des asques bituniqués de *Hysterographium fraxini* (Pers. ex Fr.) de Not. (Ascomycètes, Hystériales): développement de la paroi et déhiscence. *Cryptogamie, Mycol.* 3: 262-286.
- BELLEMÈRE A. et HAFELLNER J., 1983 - L'appareil apical des asques et la paroi des ascospores du *Catolechia wahlenbergii* (Ach.) Flotow ex Koerber et de *Epilichen scabrosus* (Ach.) Clem. ex Haf. (Lichens, Lécánorales): étude ultrastructurale. *Cryptogamie, Bryol. Lichénol.* 4: 1-36.
- BELLEMÈRE A., HAFELLNER J. et LETROUIT-GALINOU M.A., 1986a - Ultrastructure et mode de déhiscence des asques chez les Lichens des genres *Teloschistes* et *Apatoplaça* (Teloschistaceae). *Cryptogamie, Bryol. Lichénol.* 7, 189-211.

- BELLEMÈRE A., MALHERBE M.C., CHACUN H. et HAFELLNER J., 1986b - Etude ultrastructurale des asques et des ascospores chez les espèces lichénicoles non lichénisées *Abrothallus bertianus* de Not. et *A. parmeliarum* (Sommerf.) Nyl. *Cryptogamie, Mycol.* 7: 47-85.
- CHADEFAUD M., 1944 - *Biologie des Champignons*. Paris, Gallimard, 267p.
- CHADEFAUD M., 1952 - Sur le cycle sexuel des organismes eucaryotes et son évolution. *Rev. Sci.* 90: 49-57.
- CHADEFAUD M., 1953a - Les hyphes à anses latérales des Eumycètes et les affinités floridiennes de ces Champignons. *Oesterr. Bot. Z.* 100: 515-532.
- CHADEFAUD M., 1953b - Le cycle et les sporophytes des Ascomycètes. *Bull. Soc. Mycol. France* 69: 199-219.
- CHADEFAUD M., 1960 - Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie). In: M. CHADEFAUD & L. EMBERGER. *Traité de Botanique Systématique*. Tome I. Paris, Masson, XV + 1018p., 713 fig.
- CHADEFAUD M., 1976 - Hétérobasides, basides urniformes et homobasides; archébasides et asques. *Bull. Soc. Mycol. France* 92: 135-146.
- CHAZE J., 1950 - Sur la formation du périthèce et d'un appareil conidien chez *Tuber melanosporum* en culture pure. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 230: 859-861.
- DANGEARD P.A., 1894 - La reproduction sexuelle des Ascomycètes. *Le Botaniste* 4: 21-58.
- GREIS H., 1938 - Die Sexualvorgänge bei *Tuber aestivum* und *Tuber brumale*. *Biol. Zentralbl.* 68: 617-631.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1976 - La formation des ascospores chez deux Truffes: *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. (Tubéracées). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, sér. D, 283: 1173-1175.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1985 - Les asques et les ascospores du *Terfezia claveryi* Ch. (Tubérales). *Cryptogamie, Mycol.* 6: 87-99.
- JANEX-FAVRE M.C., PARGUEY-LEDUC A. et RIOUSSET L., 1988 - L'ascocarpe hypogé d'une Terfez française (*Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales, Discomycètes). *Bull. Soc. Mycol. France* 104: 145-178.
- KULIFAJ M., 1984 - *Tuber melanosporum* Vitt.: contribution à l'étude de la morphogénèse et de la physiologie de l'ascocarpe. Thèse de spécialité, Université Paul Sabatier, n° 2979, Toulouse.
- MARCHISIO V., 1964 - Sulla cariologia degli aschi e delle spore di "*Tuber maculatum*" Vitt. *Afflontia* 10: 105-113.
- MONTANT C., KULIFAJ M. et GLEIZE R., 1983 - Note sur la récolte de jeunes ascocarpes du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord) et leur évolution. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, sér. III, 296: 463-468.
- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1977 - L'organisation des asques de deux Truffes: *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. *Rev. Mycol. (Paris)* 41: 1-32.

- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1981 - Etude ultrastructurale des asques et des ascospores de Truffes du genre *Tuber*. I. Les asques. *Cryptogamie, Mycol.* 2: 37-43.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. et MONTANT C., 1988 - L'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes): structure de la glèbe. I. Les veines fertiles. Secondo Congresso internazionale sul Tartufo, Spoleto 24-27 novembre 1988 (sous presse).
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1989 - Ontogénie et structure de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Bull. Soc. Mycol. France* 105: 227-246.
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1984 - Structure et évolution de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, sér. III, 299: 315-320.
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1985 - Le stade apothécioïde de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, sér. III, 301: 143-145.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. et MONTANT C., 1987a - Formation et évolution des ascospores de *Tuber melanosporum* (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Canad. J. Bot.* 65: 1491-1503.
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT A. et KULIFAJ M., 1987b - Morphologie et structure de l'ascocarpe adulte du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Cryptogamie, Mycol.* 8: 173-202.
- THIERY J.P., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscop.* 6: 987-1018.

